

Effect of transient inactivation of rostral ventromedial medulla on swim stress-induced analgesia in formalin test in rats

Neda Soleimani¹, Elaheh Erami², Mehdi Abbasnejad³, Ali Shamsizadeh¹, Hassan Azhdari-Zarmehri^{4,5*}

1. Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

2. Nursing and Midwifery School, Torbat-e Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat-e Heydariyeh, Iran

3. Biology Dept., Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

4. Physiology Dept., Medical University, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

5. Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Received: 9 Jul 2012

Accepted: 30 Dec 2012

Abstract

Introduction: Despite significant progress in understanding pain control mechanism, there are numerous questions about central nervous mechanisms underlying stress-induced analgesia. The rostral ventromedial medulla (RVM) in the brainstem integrates a variety of functions, including pain modulation and pain perception. In the present study, we investigated the effect of temporary inactivation of RVM on stress-induced analgesia.

Methods: This study was performed using adult male Wistar rats (200-250 gr). Swim stress was induced using a cylinder filled with water (50 cm height, 20±1°C) in which the rats were kept for 3 min. For induction of pain, 50 µL of 2% formalin was injected subcutaneously in the hind paw. For temporary inactivation of RVM, 0.5 µL of 2% lidocaine was injected into RVM.

Results: Injection of lidocaine into RVM, before inducing swim stress, potentiated the anti-nociceptive effects of swim stress in phase 1 and phase 2A. In phase 2B swim stresses increased nociceptive scores of formalin test; so administration of lidocaine into RVM inhibited the effect of swim stress.

Conclusion: The result of this study demonstrated that temporal inactivation of RVM by lidocaine potentiated stress-induced analgesia.

Key words: Rostral Ventromedial Medulla, Lidocaine, Formalin test, Stress-induced analgesia

* Corresponding author e-mail: hasan.azhdari@gmail.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثر غیر فعال کردن موقتی بخش روسترال شکمی - میانی بصل النخاع روی بی دردی ناشی از استرس شنا در آزمون فرمالین در موش صحرایی

ندا سلیمانی^۱، الهه ارمی^۲، مهدی عباس نژاد^۳، علی شمسی زاده^۱، حسن اژدری زرمهری^{۴،۵*}
 ۱. مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان
 ۲. دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه
 ۳. بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان
 ۴. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین
 ۵. مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین
 دریافت: ۱۹ تیر ۹۱ پذیرش: ۱۰ دی ۹۱

چکیده

مقدمه: مطالعات زیادی برای شناخت مکانیسم‌های کنترل درد انجام شده است ولی سؤالات زیادی در مورد مراکز عصبی دخیل در بروز رفتارهای درد و تعدیل درد ناشی از استرس وجود دارد. بخش روسترال شکمی - میانی بصل النخاع (RVM) در اعمال مختلفی از قبیل تعدیل درد طبیعی و درک درد دخالت دارد. در مطالعه حاضر ما بوسیله لیدوکائین بخش RVM را بطور موقتی غیرفعال کردیم و اثر آن را بر روی پدیده بی دردی ناشی از استرس بررسی کردیم.
روش‌ها: در این مطالعه، از موش‌های صحرایی نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ - ۳۰۰ گرم استفاده شد. برای القا استرس شنا استوانه تا ارتفاع ۵۰ سانتیمتری از آب 20 ± 1 درجه پر شد. موش‌ها بمدت ۳ دقیقه در این استوانه قرار می‌گرفتند. برای وارد کردن درد، فرمالین (۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲٪) به کف پای حیوان به صورت زیر پوستی تزریق شد. برای غیر فعال کردن موقتی RVM، لیدوکائین ۲٪ به حجم ۰/۵ میکرولیتر به داخل RVM تزریق شد.
یافته‌ها: تزریق لیدوکائین به داخل هسته RVM قبل از القای استرس شنا باعث تقویت اثر ضد دردی استرس شنا بر رفتارهای درد ناشی از فرمالین در مرحله فاز ۱ و ۲A شد. همچنین در فاز ۲B تزریق لیدوکائین سبب مهار اثر بی دردی ناشی از استرس شد.
نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه اخیر نشان داد که مهار عملکرد هسته RVM توسط لیدوکائین باعث تقویت پدیده بی دردی ناشی از استرس می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بخش روسترال شکمی - میانی بصل النخاع، لیدوکائین، آزمون فرمالین، بی دردی ناشی از استرس

مقدمه

که هر گونه محرک استرس زا و یا محرک ترسناک می‌تواند مسیرهای درد را مهار کند [۲]. در پدیده بی دردی ناشی از استرس ساختارهای متفاوتی از جمله قشر مغز، ماده خاکستری دور قنات مغز (PAG)، هیپوتالاموس، هسته‌های پارابراکیال و هسته‌های مسیر راه منزوی از مناطق تعدیل کننده در این پدیده می‌باشند [۴، ۶، ۲۰]. منطقه نورونی PAG در کنترل درد نقش مهمی دارد. این منطقه از طریق پیام‌های خروجی به نخاع باعث بی دردی می‌شود. ناحیه شکمی میانی بصل النخاع

یکی از عوامل مؤثر در تعدیل درد، پدیده بی دردی ناشی از استرس (Stress-Induced Analgesia) می‌باشد که حدود سی سال است مورد توجه قرار گرفته است و این بدان معناست

hasan.azhdari@gmail.com
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی و دسترسی به آب و غذای کافی بطور تصادفی در ۵ گروه آزمایشی تقسیم شدند. دمای اتاق ۲۲ درجه سانتیگراد بود. حیوانات هر گروه در شرایط مراقبتی یکسانی با گردش زمانی ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی در سراسر مطالعه نگهداشته شدند. تمام آزمایشات بوسیله کمیته اخلاقی دانشکده علوم پزشکی رفسنجان تایید شد. آزمایش‌ها بر اساس راهنمای اخلاقی موسسه بین‌المللی مطالعه درد انجام شدند. همه تلاشمان در این راستا بود که سطح درد و استرس و نیز تعداد موش‌های مورد استفاده را کاهش دهیم.

در این پژوهش از مطالعه اولیه رفتاری با مدل درد التهابی ناشی از فرمالین استفاده شد. موش‌ها در پنج گروه هشت تایی شامل گروه کنترل، گروه لیدوکائین و گروه حلال (سالین به عنوان حلال استفاده شده است) تقسیم بندی شدند. گروه حلال به دو زیر گروه تقسیم شد در یک زیر گروه استرس شنا به موش‌ها داده شد و در زیر گروه دوم استرس شنا انجام نشد. گروه لیدوکائین نیز به دو زیر گروه تقسیم شد در یک زیر گروه استرس شنا به موش‌ها داده شد و در زیر گروه دوم استرس شنا انجام نشد. به جز گروه کنترل چهار گروه دیگر تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند.

غیرفعال سازی هسته RVM از طریق تزریق لیدوکائین به داخل این هسته انجام شد [۳۹]. جهت این امر ابتدا کانول گذاری در ناحیه RVM انجام شد. برای کانول گذاری، حیوان پس از بیهوش شدن با ترکیب ۱۰۰mg/kg کتامین و ۱۰mg/kg زایلازین در دستگاه استرئوتاکسی مستقر و پوست ناحیه سر به حداقل میزان برش داده شد. پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف نواحی برگما و لامبدا شناسایی شده و با توجه به فاصله آنها و نسبت آن با فاصله ذکر شده در اطلس پاکسینوس [۱۸] نواحی سطح مجمله متعلق به هسته RVM (AP:10.5-11, L:00, V:10.4) مشخص گردید. بعد از علامت گذاری مناطق فوق، با استفاده از مته دندان پزشکی در محل مذکور منفذی به اندازه قطر کانول راهنما، که معمولاً از سرسنگ نمره ۲۳ است، ایجاد شده و کانول راهنما به اندازه ۲ میلی‌متر کوتاه‌تر از عمق مشخص در اطلس برای هسته مورد نظر (به منظور کاهش آسیب هسته تا هنگام تزریق)، در درون مغز مستقر شد و قسمت رویی آن در روی مجمله بوسیله

و هسته پاراژینگانتوسولاریس مسیر اصلی خروجی پیام‌های PAG به طرف نخاع می‌باشد [۱۰، ۱۱، ۳۲، ۳۳]. بیشتر مطالعات نشان داده‌اند که ناحیه PAG و ناحیه RVM یک سیستم تعدیلی درد را تشکیل می‌دهند که در انواع مختلف پدیده‌های مرتبط با درد از جمله سیستم ضد دردی اپیوئیدی، پدیده کنترل دروازه‌ای و پدیده کنترل بی دردی ناشی از استرس دخیل است [۳۱]. و در مطالعات قبلی ما سیستم اورکسینرژیک هسته هیپوتالاموس که به ساقه مغز می‌آید در پدیده بیدردی ناشی از استرس و پدیده تحمل دخیل دانسته شده است [۳، ۱۲، ۲۰]. این مطالعه به دنبال بررسی نقش RVM در پدیده بی دردی ناشی از استرس شنا از طریق رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین می‌باشد. در خصوص RVM نتایج مطالعات الکتروفیزیولوژیک بر نقش دوگانه این ناحیه در کنترل درد دلالت دارند [۱۶، ۲۴]. بطوریکه سه نوع نورون در این هسته شناسایی شده‌اند، on-cells، Off-cells و neutral cells. تحریک الکتریکی نورون‌های on cell باعث تسهیل درد می‌شود درحالی‌که تحریک الکتریکی نورون‌های off cell باعث مهار درد می‌شود. اطلاعات ما در خصوص نورون‌های neutral cells اندک است [۲۹، ۳۸].

درد ناشی از تزریق زیر پوستی فرمالین در دو فاز مشخص بروز می‌کند: فاز یک، درد حاد ایجاد شده بدلیل تحریک محیطی دردناک می‌باشد و عمدتاً از طریق فیبر بدون میلین C و تا حدی فیبر میلین دار A دلتا به مغز مخابره می‌شود [۳۰، ۴۳]. فاز دوم یک نوع درد التهابی است که بدلیل تخریب بافتی ایجاد شده و از طریق تحریک بیش از حد نخاع (به علت فعال شدن کانال‌های تحریکی NMDA) ایجاد می‌شود و اینجا نیز غالباً فیبرهای C مسیر بالاروی درد را ایجاد می‌کنند [۷].

تاکنون مطالعات رفتاری اندکی در خصوص نقش RVM مغز در پدیده بی دردی ناشی از استرس انجام شده است. بر همین اساس در این مطالعه ما بر آن شدیم تا با مهار هسته RVM درک بهتری از نقش این ناحیه از مغز در پدیده بی دردی ناشی از استرس داشته باشیم.

مواد و روش‌ها

تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سفید به وزن

حرکات پا در دوره های ۱۵ ثانیه ای و به مدت ۹۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین، مشاهده و ثبت شد. تزریق فرمالین سبب رفتارهای دردی شد که این رفتارها از دو فاز تشکیل شده و توسط اینترفاز جدا می شوند. فاز اول از دقیقه ۰ تا ۷ می باشد، اینترفاز از دقیقه ۸ تا ۱۴ و فاز دوم از دقیقه ۱۵ تا ۹۰ می باشد [۳، ۴۰].

پس از انجام تمامی آزمایشات مورد نظر موش ها با کتامین بیهوش شده و سپس حجم نیم میکرولیتر رنگ متیلین بلو ۲٪ از طریق کانول به مغز آنها تزریق شد و بعد از گذشت سه تا پنج دقیقه به روش ترانس کاردیال، عروق مغزی آنها شستشو داده شد. پرفیوژن با ۱۵۰ میلی لیتر سالین شروع شد و با ۵۰۰ میلی لیتر فرمالین ۱۰٪ کامل شد. سپس مغز موش ها از جمجمه خارج شد و با برش گیری توسط ویبروتوم از ساقه مغز انجام شد. فقط داده های آن موش هایی که محل تزریق آنها در RVM تایید می شد در نتایج آورده شد [۳۶].

برای تحلیل آماری داده ها از نرم افزار SPSS16 استفاده شد و به منظور بررسی اختلاف آماری میانگین ها از آزمون ANOVA و سپس از آزمون های Tukey استفاده گردید. برای مقایسه تغییرات در میانگین نمرات در زمان های مختلف پس از تزریق دارو از روش Repeated measure ANOVA استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان معیار معنی دار بودن اختلاف میانگین ها در نظر گرفته شد.

یافته ها

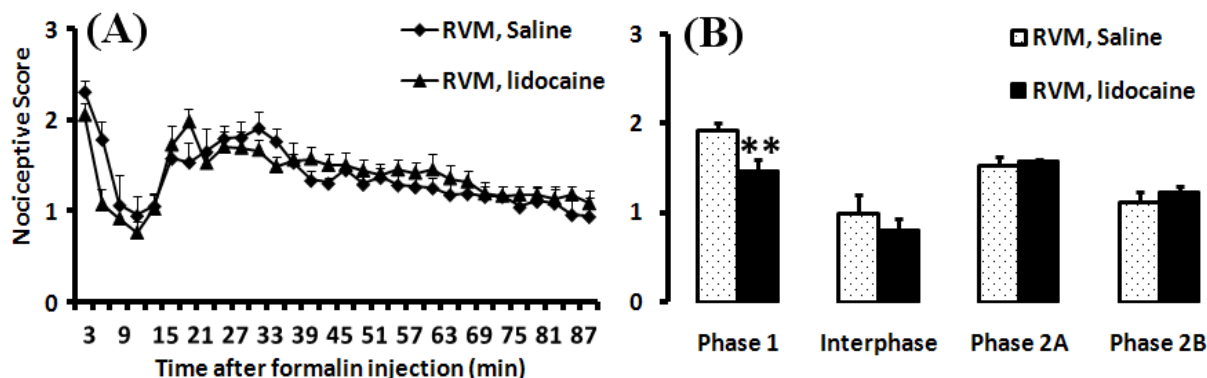
رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین در کف پای حیوان:

تزریق فرمالین سبب رفتارهای دردی شد که در بازه زمانی ۹۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین مشاهده شدند، این رفتارها از دو فاز تشکیل شده که این دو فاز توسط اینترفاز از یکدیگر جدا می شوند (شکل ۱). فاز اول از دقیقه ۰ تا ۷ می باشد بعد از فاز اول رفتارهای دردی طی مرحله اینترفاز که از دقیقه ۸ تا ۱۴ می باشد کاهش پیدا کردند که در قسمت B شکل ۱ بصورت ستونی نشان داده شده است، سپس فاز دوم شروع می شود که در این مرحله از دقیقه ۱۵ تا ۹۰ رفتارهای دردی رتبه بندی شده و جهت مشخص شدن اثر استرس روی قسمت نخست یا انتهای فاز دوم، این مرحله به دو قسمت تقسیم شده: 2A از

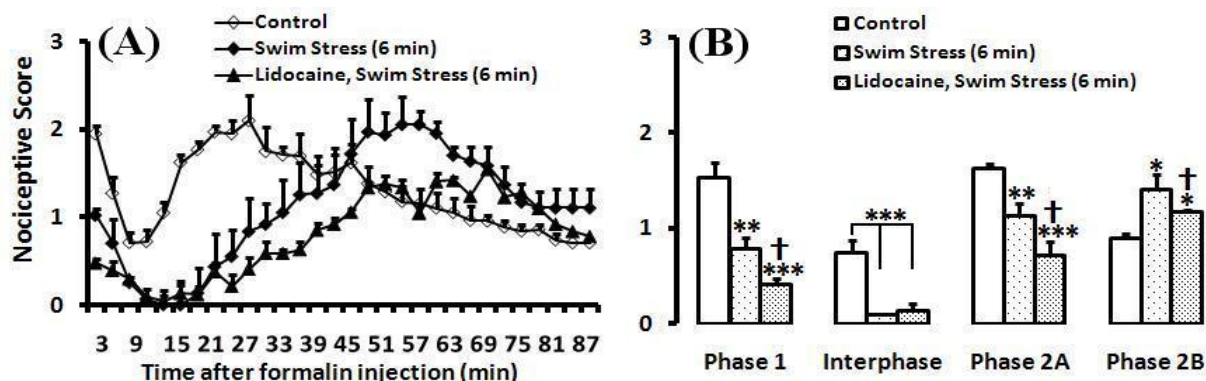
سیمان دندان پزشکی ثابت گردید. دو پیچ کوچک (پیچ عینک) در استخوان جمجمه تعبیه و در درون سیمان دندان پزشکی فرو رفت. این دو پیچ در حکم مسلح سازی سیمان بوده و از جدا شدن آن از سطح جمجمه جلوگیری می کند. منفذ کانول راهنما در بیرون جمجمه بوسیله درپوش خاصی مسدود شد و فقط در زمان تزریق دارو برداشته شد. بعد از اتمام جراحی موش یک هفته دوره بهبودی را طی کرد. یک کانول با اندازه ی نازکتر که از سوزن نمره ۳۰ است به اندازه ای که ۲ میلی متر طول تر از نوک کانول راهنما باشد تهیه و از یک طرف به یک لوله نازک پلی اتیلن وصل شد. سر دیگر لوله پلی اتیلن به سیستم ریز تزریق وصل شده و مقدار ۰/۵ میکرولیتر لیدوکائین ۲ درصد در قسمت نوک کانول تزریق وارد شد. غیر فعال سازی این هسته با تزریق لیدوکائین ۱۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین انجام شد [۳۶].

برای القا استرس شنا از یک استوانه با ابعاد ۷۰ سانتیمتر عمق، و قطر ۵۵ سانتیمتر استفاده شد. استوانه تا ارتفاع ۵۰ سانتیمتری از آب ۲۰ درجه پر شد. برای ایجاد استرس موش ها بمدت ۳ دقیقه در این استوانه قرار می گرفتند و پس از تمام شدن زمان مقرر با حوله خشک شدند لازم به ذکر است که تمام موش ها با یک نوع حوله و به یک اندازه خشک می شدند. استرس شنا بلا فاصله پس از تزریق لیدوکائین انجام شد [۱۳، ۱۴، ۳۹].

برای انجام آزمایش ها حیوانات ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمون در جعبه آزمون فرمالین (این جعبه از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۳۰×۳۰ سانتی متر است که آینه ای با زاویه ۴۵ درجه در زیر آن نصب شده است تا امکان دیدن مناسب حیوانات فراهم شود) قرار داده شدند تا به محیط جدید عادت کنند. برای انجام آزمون فرمالین به زیر پوست کف پای راست هر موش محلول فرمالین ۲٪ با حجم ۵۰ میکرولیتر توسط یک سر سوزن نمره ۳۰ تزریق شد. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه ای از رفتارهای القاء شده با فرمالین و رفتارهای خودبخودی را نشان می دهد که به آنها نمره ۰ تا ۳ داده می شود. رتبه ۰- پای حیوان بطور طبیعی روی زمین قرار می گیرد، رتبه ۱- پای حیوان مختصری روی زمین قرار می گیرد، رتبه ۲- پای حیوان از زمین کنده شده است و رتبه ۳- حیوان پایش را گاز می گیرد و یا لیس می زند. تعداد کل این



شکل ۱- نمره آزمون فرمالین برای ۹۰ دقیقه (A) و نمودار ستونی میانگین نمره آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین (B) در دو گروه حلال (که در RVM آن ها سالیین تزریق شده است) و گروه لیدوکائین. همانطور که در شکل مشاهده می شود تزریق فرمالین سبب رفتارهای دردی شد که این رفتارها از دو فاز تشکیل شده و توسط اینترفاز جدا می شوند. فاز اول از دقیقه ۰ تا ۷ می باشد، اینترفاز از دقیقه ۸ تا ۱۴ و فاز دوم از دقیقه ۱۵ تا ۹۰ می باشد. این مرحله به دو قسمت تقسیم شد A۲ از دقیقه ۱۵ تا ۶۰ و B۲ شامل رفتارهای دردی از دقیقه ۶۱ تا ۹۰ است و میانگین آنها در قسمت B شکل بصورت ستونی نشان داده شده است. * نمایانگر اختلاف معنی دار بین دو گروه درمان شده با سالیین و لیدوکائین در فاز ۱ ($p < 0.01$).



شکل ۲- اثر تزریق لیدوکائین بر نمره آزمون فرمالین بعد از استرس شنا (A) و نمودار ستونی میانگین نمره آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین (B). * نمایانگر اختلاف معنی دار بین دو گروه کنترل و گروه تحت استرس شنا و لیدوکائین + استرس شنا ($P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$) و † نمایانگر اختلاف معنی دار بین دو گروه تحت استرس شنا و لیدوکائین + استرس شنا در فازهای مختلف آزمون فرمالین می باشد ($P < 0.05$).

اثر استرس شنا روی رفتارهای دردی ناشی از آزمون فرمالین: تزریق فرمالین در کف پای حیوانات پس از استرس شنا باعث کاهش رفتارهای دردی ناشی از فرمالین در مرحله فاز ۱ ($P < 0.01$)، اینترفاز ($P < 0.001$)، فاز ۲A ($P < 0.001$) شد. این در حالیست که استرس شنا سبب افزایش رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین در فاز 2B ($P < 0.05$) شد (شکل ۲).

اثر غیر فعال سازی هسته RVM (از طریق تزریق لیدوکائین به این هسته) روی کاهش رفتارهای دردی ناشی از استرس شنا: تزریق لیدوکائین به داخل هسته RVM قبل از القاء استرس شنا باعث تقویت اثر ضد دردی استرس شنا بر رفتارهای دردی ناشی از فرمالین در مرحله فاز ۱ ($P < 0.01$) و

دقیقه ۱۵ تا ۶۰ و 2B شامل رفتارهای دردی از دقیقه ۶۱ تا ۹۰ می باشد.

اثر تزریق لیدوکائین به هسته RVM در مقایسه با تزریق سالیین روی رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین در کف پای حیوان: تزریق فرمالین در کف پای حیوانات پس از تزریق لیدوکائین به داخل RVM سبب رفتارهای دردی شد که در بازه زمانی ۹۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین مشاهده شدند (شکل ۱). تزریق لیدوکائین به داخل بخش RVM سبب کاهش رفتارهای دردی در مرحله فاز ۱ آزمون فرمالین نسبت به تزریق نرمال سالیین شد ($P < 0.05$) اما اثر معنی داری بر رفتارهای دردی در اینترفاز و هر دو بخش ابتدایی و انتهایی فاز ۲ آزمون فرمالین نداشت ($p > 0.05$).

درد متفاوت می‌گردد [۶]. در همین راستا برخی آزمایشات نشان داده‌اند که گاهی استرس حاد و مزمن منجر به پر دردی (Hyperalgesia) می‌گردد. برای مثال در آزمایشی نشان داده شد که استرس شنای اجباری بلافاصله منجر به القای بی دردی می‌شود، در حالی که تکرار استرس می‌تواند منجر به پر دردی گردد که این پر دردی می‌تواند از طریق گلوکوکورتیکوئیدهای آدرنالی باشد و اثر بی دردی استرس هم می‌تواند مربوط به فعالیت بخش‌های غیر آدرنالی محور HPA یا سیستم اعصاب مرکزی باشد [۱۳]. در آزمایشی دیگر نیز اعمال استرس حاد بی حرکتی توسط رسترین موجب بی دردی در فاز ۱ و فاز ۲ درد ناشی از آزمون فرمالین گشت [۴۰].

سیستم تعدیل کننده درد PAG-RVM در بی دردی ناشی از استرس به عنوان یک ناحیه فوق نخاعی دخیل در کاهش درد مورد توجه قرار گرفت [۱۵]. PAG بطور حتم به علت وفور گیرنده های اپیوئیدی در کاهش درد شرکت می‌کند [۲۴]. پیام‌های کاهش درد در مسیر نزولی Dorsolateral funiculus (DLF) به سمت شاخ خلفی نخاع از RVM خارج می‌شود [۲۳]. در واقع پاسخ‌های PAG در برابر درد در RVM دست‌کاری می‌شود [۱۵، ۲۳]. همچنین واکنش دوگانه RVM در برابر محرک‌های درد جالب توجه است [۲۴]. مطالعات الکتروفیزیولوژی نشان داده‌اند که نورون‌های این ناحیه همگن نیستند. این نورون‌ها شامل سه دسته متفاوت on-cell, off-cell, neutral cell می‌باشند [۲۱]. سلول‌های neutral یا خنثی همان طور که از اسمشان مشخص است، در برابر درد متأثر نمی‌شوند، اما on-cell‌ها قبل از بروز محرک درد ایجاد یک موج تحریکی می‌کنند و در واقع تسهیل کننده درد می‌باشند. Off-cell‌ها در هنگام بروز درد یک توقف در مسیر درد ایجاد می‌کنند، به عبارتی درد را مهار می‌کنند [۲۹، ۳۸]. لیدوکائین به صورت غیر اختصاصی هم on-cell, off-cell را غیر فعال می‌کنند [۳۷]. تقویت بی دردی ناشی از استرس در مطالعه حاضر شاید با توجه به عملکرد نورونی متفاوت در ساقه مغز قابل توجیه باشد. در واقع می‌توان نتیجه گرفت بیشتر RVM در پدیده بی دردی ناشی از استرس نقش تسهیل کنندگی درد را دارد در مطالعات اولیه انجام شده روی بخش روسترال شکمی- میانی بصل النخاع (RVM)، Coderre پیشنهاد کرد که این بخش در یک حلقه

2A ($P < 0.001$) شد. این در حالیهست که رفتارهای دردی در مرحله اینترفاز تحت تأثیر قرار نگرفتند ($P > 0.05$). در خصوص فاز 2B تزریق لیدوکائین منجر به مهار اثر استرس شنا و افزایش رفتارهای بی دردی ناشی از فرمالین شد ($P < 0.05$) (شکل ۲).

بحث

در این مطالعه اثر غیرفعال کردن موقتی ناحیه RVM در ساقه مغز روی پدیده بی دردی ناشی از استرس بررسی شد. نتایج ما نشان داد که غیر فعال کردن موقتی این هسته (با استفاده از لیدوکائین) باعث تشدید اثر استرس شنا در مهار درد ناشی از فرمالین می‌شود.

آزمون درد فرمالین نسبت به مدل‌های حاد درد مناسب‌تر است زیرا ایجاد دردی مداوم می‌کند که مشابه دردهای کلینیکی است و هم استرس ناشی از اجرای این مدل درد بر حیوان کمتر می‌باشد [۹، ۱۰]. همچنین تزریق زیرپوستی فرمالین یک نوع درد التهابی و تونیک ایجاد می‌کند که نتیجه آسیب بافتی و فعالیت اعصاب مرکزی می‌باشد. این درد شامل فاز ۱ (ناشی از تخریب بافتی و تحریک اعصاب محیطی) و فاز ۲ (ناشی از حساس شدن نورون‌های شاخ خلفی نخاع) می‌باشد. البته در بین دو فاز اصلی درد یک اینترفاز که مهارگر درد می‌باشد نیز دیده می‌شود [۷، ۸].

لیدوکائین در تحقیقات نوروفیزیولوژی برای مهار موقت یک هسته یا منطقه نورونی خاص جهت بررسی نقش آن ناحیه زیاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده باعث محدود کردن عبور سدیم از غشا می‌شود، در واقع به نوعی با از کار انداختن کانال‌های سدیمی و کاهش مرحله دیلاریزاسیون پتانسیل عمل منجر به غیر فعال سازی نورون می‌گردد. البته این اثر موقتی است زیرا نیمه عمر لیدوکائین کوتاه است [۲۶، ۳۷]. در مطالعه حاضر دیده می‌شود که با حذف موقتی RVM از طریق لیدوکائین بی دردی ناشی از استرس تشدید شده است. مشخص شده است که استرس از طریق فعال کردن سیستم‌های عصبی و نوروترانسمیتری در مهار درد موجب بی دردی ناشی از استرس می‌گردد [۴، ۲۸]. بسته به نوع استرس، مدت زمان استرس و اینکه حاد باشد یا مزمن ماهیت پاسخ به

می‌کند [۶] و رسپتورهای آن در مناطقی از مغز مثل RVM و PAG و نیز در نخاع دیده شده است [۱۹، ۴۱، ۴۲]. بنابراین عدم تأثیر استرس شنا بر درد در این مرحله ممکن است ناشی از مشارکت سایر ساختارها در مرحله اینترفاز باشد که این امر مطالعات بیشتری را می‌طلبد [۶]. در بخش دیگری از این پژوهش، نتایج ما نشان داد که تزریق لیدوکائین به RVM باعث تضعیف بی‌دردی ناشی از استرس در فاز 2b (برخلاف فاز 2a و فاز 1) شد. با توجه به نیمه عمر کوتاه لیدوکائین (حداکثر اثر لیدوکائین ۳۰-۴۰ دقیقه است) [۳۷] و فعال شدن تدریجی RVM ممکن است اثر لیدوکائین در این مرحله کم‌رنگ شده باشد. همچنین می‌توان به نوروترانسمیترهای چون گابا، گلوتامات که نقش آنها در پدیده بی‌دردی ناشی از استرس ثابت شده [۶] و رسپتورهای آنها در on-cell, off-cell دیده شده، توجه کرد [۲۴]. مطالعات نشان داده است که مهار درد در off-cell بوسیله گابا واسطه‌گری می‌شود [۲۴]. گلوتامات نیز مسئول تسهیل درد در on-cell می‌باشد [۲۵]. به علاوه نوروترانسمیترهایی مثل اورکسین نیز که اخیراً کشف شده‌اند، رسپتورهایش در RVM دیده شده است [۲۷].

بطور خلاصه نتیجه پژوهش فوق نشان داد که غیرفعال سازی موقتی منطقه RVM در ساقه مغز موجب تقویت بی‌دردی ناشی از استرس می‌شود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می‌باشد.

فیدبک مثبت درد نقش دارد که در معرض محرک دردناک فعال‌تر می‌شود در نتیجه موجود زنده در برابر محرک‌های آسیب رسان بعدی با آستانه پایین‌تر و سرعت بیشتر پاسخ می‌دهد [۷]. در مطالعه ای دیگر با تحریک الکتریکی شدید RVM پر دردی و با تحریک الکتریکی با شدت کمتر بی‌دردی دیده شد [۳۵، ۴۵]. همچنین افزایش رونوشت ژن‌های C-fos در منطقه RVM در هنگامی که موش‌های صحرایی نر سفید متحمل درد سوزنی در ناحیه دم گشته‌اند، دیده شده که نشانه افزایش فعالیت منطقه RVM در هنگام تحریک دردناک می‌باشد [۴۶].

در مقابل مطالعات دیگری نقش مهاری RVM را نشان داده‌اند. از طریق مطالعه سیستم اپیوئیدی منطقه RVM مهارگر درد دانسته شده است [۲۲]. همچنین هنگامی که موش‌های صحرایی نر تحت استرس ناشی از مقید کردن زمان دار در رسترینر قرار گرفتند و سپس مدل درد tail-flick انجام شد، در حالی که منطقه RVM آنها با لیدوکائین غیرفعال شده بود، کاهش مقاومت در برابر درد در آنها دیده شد که به نوعی نتایج فوق عکس نتیجه مطالعه حاضر است [۳۴]. تفاوت در انواع مدل‌های درد و نوع استرس وارد شده به حیوان شاید مهم‌ترین دلیل این تفاوت‌ها باشد.

در اینجا به طور مداوم به مدت ۹۰ دقیقه رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین بعد استرس شنا اندازه‌گیری شد. در مرحله اینترفاز (در دقایق ۸-۱۴) کاهش درد ناشی از استرس دیده نشد. به طور کلی در مرحله اینترفاز تست فرمالین کاهش درد دیده می‌شود که حاصل مکانیسم‌های مهار کننده درد می‌باشد در پژوهش‌هایی با تأثیر آگونیست های گابا، مهار بی‌دردی اینترفاز دیده شده است [۱۷]. از آنجا که گابا در ۴۰٪ سیناپس های مهاری سیستم عصبی مرکزی پستانداران شرکت

induced analgesia. *Ann N Y Acad Sci* 467 (1986) 140-53.

- [3] Azhdari-Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y, Erami E, Khakpay R, Azizi H, Rohampour K, Intra-Periaqueductal Gray Matter Microinjection of Orexin-A Decreases Formalin-Induced Nociceptive Behaviors in Adult Male Rats. *J Pain* 12 (2011) 280-287.
- [4] Bodnar RJ, Kelly DD, Brutus M, Glusman M, Stress-

References

- [1] Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF, The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain* 60 (1995) 91-102.
- [2] Akil H, Young E, Walker JM, Watson SJ, The many possible roles of opioids and related peptides in stress-

- induced analgesia: neural and hormonal determinants. *Neurosci Biobehav Rev* 4 (1980) 87-100.
- [5] Bowerly NG, Smart TG, GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. *Br J Pharmacol* 147 (2006) S109-119.
- [6] Butler RK, Finn DP, Stress-induced analgesia. *Prog Neurobiol* 88 (2009) 184-202.
- [7] Coderre TJ, Vaccarino AL, Melzack R, Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. *Brain Res* 535 (1990) 155-8.
- [8] Dickenson AH, Sullivan AF, Evidence for a role of the NMDA receptor in the frequency dependent potentiation of deep rat dorsal horn nociceptive neurones following C fibre stimulation. *Neuropharmacology* 26 (1987) 1235-8.
- [9] Dubuisson D, Dennis SG, The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4 (1977) 161-74.
- [10] Erami E, Sofi Abadi M, Esmaeili M, Haghdost-Yazdi H, Azhdari-Zarmehri H, Decreased Formalin Induced Nociceptive Behaviors by Morphine Microinjection into the Nucleus Reticularis Paragigantocellularis Lateralis. *Knowledge & Health* [Article in persian] 6 (2011) 32-37.
- [11] Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Ghasemi-Dashkhasan E, Esmaeili MH, Semnanian S, Intra-Paragigantocellularis Lateralis Injection of Orexin-A Has an Antinociceptive Effect on Hot Plate and Formalin Tests in Rat. *Brain Res* (2012) 16-23.
- [12] Erami E, Azhdari-Zarmehri H, Rahmani A, Ghasemi-Dashkhasan E, Semnanian S, Haghparast A. Blockade of Orexin Receptor 1 Attenuates the Development of Morphine Tolerance and Physical Dependence in Rats. *Pharmacol Biochem Behav* 103 (2012) 212-219.
- [13] Fereidoni, M. Javan, M. Semnanian, S. Ahmadiani, A. Hypothalamus Pituitary Adrenal axis and stimulatory G proteins signaling role in nociceptive changes induced by forced swim stress. *Physiol Pharmacol* 10 (2007) 291-302
- [14] Fereidoni M, Javan M, Semnanian S, Ahmadiani A, Chronic forced swim stress inhibits ultra-low dose morphine-induced hyperalgesia in rats. *Behav Pharmacol* 18 (2007) 667-72.
- [15] Fields HL, Basbaum AI, Heinricher M M, *Central nervous system mechanisms of pain modulation*. 2005.
- [16] Azhdari-Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y, Orexin A modulates rostral ventromedial medulla neuronal activity of rat in Vitro. Abstracts of the 33rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Neuro 2010), Available at: <http://www.sciencedirect.com>, *Neurosci Res* 68 (2010) 102.
- [17] Franklin KB, Abbott FV, Pentobarbital, diazepam, and ethanol abolish the interphase diminution of pain in the formalin test: evidence for pain modulation by GABAA receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 46 (1993) 661-6.
- [18] Paxinos G and Watson C, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. (4th edition and 6th edition) Academic press, New York (1998 and 2007).
- [19] Gilbert AK, Franklin KB, The role of descending fibers from the rostral ventromedial medulla in opioid analgesia in rats. *Eur J Pharmacol* 449 (2002) 75-84.
- [20] Heidari-Oranjaghi N, Azhdari-Zarmehri H, Erami E, Haghparast A. Antagonism of Orexin-1 Receptors Attenuates Swim- and Restraint Stress-Induced Antinociceptive Behaviors in Formalin Test. *Pharmacol Biochem Behav* (2012) 299-307.
- [21] Heinricher MM, McGaraughty S, Tortorici V, Circuitry underlying antiopioid actions of cholecystokinin within the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol* 85 (2001) 280-6.
- [22] Heinricher MM, Morgan M M, Tortorici V, Fields HL, Disinhibition of off-cells and antinociception produced by an opioid action within the rostral ventromedial medulla. *Neuroscience* 63 (1994) 279-88.
- [23] Heinricher MM, Neubert MJ, Neural basis for the hyperalgesic action of cholecystokinin in the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol* 92 (2004) 1982-9.
- [24] Heinricher MM and Ingram sL. *The Brainstem and Nociceptive Modulation*. Vancouver: WA, USA, 2007.
- [25] Jinks SL, Carstens EE JF, Antognini, Glutamate receptor blockade in the rostral ventromedial medulla reduces the force of multisegmental motor responses to supramaximal noxious stimuli. *Neurosci Lett* 426 (2007) 175-80.
- [26] Katzung B and Master S, *Basic Clin Pharmacol*, Mc Graw-Hill companies: Incorporated, 2009.
- [27] Korczynski W, Ceregrzyn M, Matyjek R, Kato I,

- Kuwahara A, Wolinski J, Zabielski R, Central and local (enteric) action of orexins. *J Physiol Pharmacol* 57 (2006) 17-42.
- [28] Madden Jth, Akil H, Patrick R L, Barchas J D, Stress-induced parallel changes in central opioid levels and pain responsiveness in the rat. *Nature* 265 (1977) 358-60.
- [29] Martenson ME, Cetas JS, Heinricher MM, A possible neural basis for stress-induced hyperalgesia. *Pain* 142 (2009) 236-44.
- [30] Martindale J, Bland-Ward PA, Chessell IP, Inhibition of C-fibre mediated sensory transmission in the rat following intraplantar formalin. *Neurosci Lett* 316 (2001) 33-6.
- [31] Mayer DJ, Price DD, Central nervous system mechanisms of analgesia. *Pain* 2 (1976) 379-404.
- [32] Millan MJ, Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66 (2002) 355-474.
- [33] Millan MJ, The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 57 (1999) 1-164.
- [34] Mitchell JM, Lowe D, Fields HL, The contribution of the rostral ventromedial medulla to the antinociceptive effects of systemic morphine in restrained and unrestrained rats. *Neuroscience* 87 (1998) 123-33.
- [35] Morgan MM, Heinricher MM, Fields HL, Inhibition and facilitation of different nocifensor reflexes by spatially remote noxious stimuli. *J Neurophysiol* 72 (1994) 1152-60.
- [36] Nikbakht F, Behzadi Z, Evaluation of specific lesion of ventrolateral PAG projecting to NRM by ibotenic acid using formalin test. *Physiol Pharmacol* 4 (2000) 213-218.
- [37] Pertovaara A, Wei H, Hamalainen MM, Lidocaine in the rostroventromedial medulla and the periaqueductal gray attenuates allodynia in neuropathic rats. *Neurosci Lett* 218 (1996) 127-30.
- [38] Porreca F, Ossipov MH, Gebhart GF, Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends Neurosci* 25 (2002) 319-25.
- [39] Quintero L, Cuesta MC, Silva JA, Arcaya JL, Pinerua-Suhaibar L, Maixner W, Suarez-Roca H, Repeated swim stress increases pain-induced expression of c-Fos in the rat lumbar cord. *Brain Res* 965 (2003) 259-68.
- [40] Sofi Abadi Mi, Heidari Oranjahi N, Esmaeili MH, Hashem, Haghdost-Yazdi EE, Azhdari Zarmehri H, Assesment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiol Pharmacol* 15 (2011) 395-402
- [41] Stiller CO, Bergquist J, Beck O, Ekman R, Brodin E, Local administration of morphine decreases the extracellular level of GABA in the periaqueductal gray matter of freely moving rats. *Neurosci Lett* 209 (1996) 165-8.
- [42] Suh HW, Song DK, Huh SO, Lee KC, Kim YH, Differential potentiative effects of GABA receptor agonists in the production of antinociception induced by morphine and beta-endorphin administered intrathecally in the mouse. *Life Sci* 66 (2000) 61-9.
- [43] Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K, The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 51 (1992) 5-17.
- [44] Vanderah TW, Suenaga N M, Ossipov MH, Malan TP Jr, Lai J, Porreca F, Tonic descending facilitation from the rostral ventromedial medulla mediates opioid-induced abnormal pain and antinociceptive tolerance. *J Neurosci* 21 (2001) 279-86.
- [45] Watkins LR, Wiertelak EP, Goehler LE, Mooney-Heiberger K, Martinez J, Furness L, Smith KP, Maier SF, Neurocircuitry of illness-induced hyperalgesia. *Brain Res* 639 (1994) 283-99.
- [46] Zhou Z, He L, Zhou J, [Expression of C-fos protein in CNS following electroacupuncture of the "quanliao" and the electrostimulation of the rat tail]. *Zhen Ci Yan Jiu* 18 (1993) 14-20.